

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/EP05/003220

International filing date: 26 March 2005 (26.03.2005)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: DE

Number: 102004016653.6

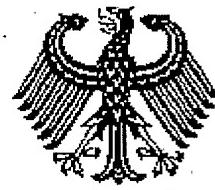
Filing date: 31 March 2004 (31.03.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 22 July 2005 (22.07.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse

BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

08.07.2005

**Prioritätsbescheinigung über die Einreichung
einer Patentanmeldung****Aktenzeichen:**

10 2004 016 653.6

Anmeldetag:

31. März 2004

Anmelder/Inhaber:

BASF Plant Science GmbH, 67056 Ludwigshafen/DE

Bezeichnung:Verwendung von hydroxypropylierter hochamylose-
haltiger Kartoffelstärke zur Erzielung hoher KIT-Zah-
len**IPC:**

B 65 D 65/42

**Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.**

München, den 29. Juni 2005
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

Patentansprüche

1. Mehrschichtige Verpackung für fettende Güter oder Teil einer solchen Verpackung, umfassend

5

- eine Trägerschicht aus einem polymeren Material als Hauptkomponente und
- mindestens eine auf die Trägerschicht aufgebrachte, nicht die Außenseite der Verpackung bildende Schicht, die ein Hochamylose-Stärkederivat mit einem Amylosegehalt von mindestens 70% als Hauptkomponente enthält, dadurch gekennzeichnet, dass das Hochamylose-Stärkederivat ein mit einem C₂-C₆-Alkylenoxid modifiziertes Stärkederivat ist.

15 2. Mehrschichtige Verpackung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das Hochamylose-Stärkederivat ein mit einem C₂-C₄-Alkylenoxid modifiziertes Stärkederivat ist.

20 3. Mehrschichtige Verpackung oder Teil einer solchen Verpackung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das C₂-C₆-Alkylenoxid Propylenoxid ist.

25 4. Mehrschichtige Verpackung oder Teil einer solchen Verpackung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das Hochamylose-Stärkederivat durch Modifizierung ggf. teilabgebauter Mais-, Weizen-, Kartoffel-, HA Erbsen- oder Tapiokastärke erhalten wird.

30 5. Mehrschichtige Verpackung oder Teil einer solchen Verpackung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass der Derivatisierungsgrad des Stärkederivats 0,1 bis 1, stärker bevorzugt 0,1 bis 0,4 beträgt.

35 6. Mehrschichtige Verpackung oder Teil einer solchen Verpackung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass das polymere Material der Trägerschicht ein natürlich vorkommendes Polymer, vorzugsweise Cellulose, ist.

40 7. Mehrschichtige Verpackung oder Teil einer solchen Verpackung nach einem der voranstehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die ein Hochamylose-Stärkederivat als Hauptkomponente enthaltende Schicht zusätzliche Bestandteile, ausgewählt unter Pigmenten, Weichmachern, die Langzeitstabilität erhöhenden Mitteln, die Wasserstabilität erhöhenden Mitteln und die Elastizität beeinflussenden Mitteln, enthält.

2

8. Verwendung einer mit einem C₂-C₆-Alkylenoxid derivatisierten Hochamylose-Stärke als Hauptkomponente einer Schicht einer mehrschichtigen Verpackung, die auf einer Trägerschicht dieser Verpackung aus einem polymeren Material aufgebracht ist, zur Erzeugung von Fettausdichtigkeit der mehrschichtigen Verpackung.
5
9. Verwendung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, dass das C₂-C₆-Alkylenoxid Propylenoxid ist .
10. 10. Verwendung nach einem der Ansprüche 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, dass das Stärkederivat durch Modifizierung von Hochamylose-Kartoffelstärke erhalten wird und ggf. einen Derivatisierungsgrad von 0,1 bis 1, stärker bevorzugt von 0,1 bis 0,4 aufweist.
15. 11. Verwendung nach einem der Ansprüche 8, 9 oder 10 dadurch gekennzeichnet, dass zur Modifizierung eine Hochamylose-Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von mindestens 70 % verwendet wird.
20. 12. Verwendung nach einem der Ansprüche 8 bis 11, dadurch gekennzeichnet, dass die genannte Schicht zusätzliche Bestandteile, ausgewählt unter Pigmenten, Weichmachern, die Langzeitstabilität erhöhenden Mitteln, die Wasserstabilität erhöhenden Mitteln, den KIT-Wert erhöhenden Mitteln und die Elastizität beeinflussenden Mitteln, bevorzugt ausgewählt unter Glycerin, Harnstoff, Borax oder Glyoxal, enthält.

25

Verwendung von hydroxypropylierter hochamylosehaltiger Kartoffelstärke zur Erzielung hoher KIT-Zahlen

Beschreibung

5

Gegenstand der Erfindung sind mehrschichtige, fettdichte Verpackungsmaterialien mit einer Trägerschicht, die aus Papier/Karton oder anderen geeigneten, auf Polymeren basierenden Stoffen bestehen.

10 Weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung von fettdichtem Verpackungsmaterial mit einer KIT-Zahl von größer 21 durch Verwendung von hydroxypropylierter hochamylosehaltiger Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von größer 70 %.

15 Es ist seit langem bekannt, Papier- und Kartonbehälter mit Beschichtungen zu versehen, die eine Sperrwirkung für Aromen oder Feuchtigkeit/Flüssigkeiten besitzen. So beschreibt die Patentanmeldung DE 41 09 983 A 1 ein flexibles Verpackungs-behältnis mit einem Verbund aus einer Papierschicht und einer thermoplastischen Schicht oder Folie. Das thermoplastische Schicht- oder Folienmaterial besteht aus Stärke, einem

20 synthetischen, nicht- polyolefinischen, hydroxylgruppenhaltigen Polymeren, z.B. einem oxygenierten Polymeren, sowie Weichmachern natürlichen Ursprungs, z.B. stärkeabgeleiteten Polyalkoholen. Dieses Material kann durch Wärmezufuhr aufgeschmolzen werden und ist daher extrudierbar. In der Patentanmeldung DE 41 37 802 A1 wird vorgeschlagen, einen Karton mit einer beschichteten Papierbahn zu kaschieren, um ein
25 verrottbares, flüssigkeitsabweisendes Produkt zu erhalten. Die Beschichtung der Papierbahn soll auf Stärkebasis erfolgen. Die Patentanmeldung DE 42 94 110 offenbart eine Beschichtungsdispersion, die aus Copolymerisaten von oxidiertem Stärke und Styrol, Butadien, Acrylsäure oder ähnlichen polymerisierbaren Molekülen erzeugt wird. Diese Dispersion vermindert die Gas- und Wasserdurchlässigkeit von Karton oder Papier.

Allerdings ist es häufig notwendig, Verpackungsmaterialien mit hoher Fettdichtigkeit bereitzustellen. So fordern Tiernahrung, Backwaren, Konfekt und Schokolade von der Verpackung eine besonders hohe Fettdichtigkeit, die beispielsweise durch die KIT-

35 Zahlen mit Werten zwischen 8 und 12 angegeben werden. Hohe KIT-Zahlen stehen dabei für hohe Fettdichtigkeiten.

Entsprechende im Handel angebotene Papier-/Kartonverpackungen sind üblicherweise einer fettabweisenden Oberflächen- und/oder Massebehandlung unterzogen worden.

40 Für diese Massebehandlung bzw. Oberflächenbehandlung werden derzeit vor allem Fluorpolymere eingesetzt, wobei etwa bis zu 5 Gew.-% Beschichtungsmaterial auf das Material gelangen. Bereits Fettdichten > 6 bis 8 können nur durch Kombinationen von

Schicht- und Massebehandlung erreicht werden, Fettdichten mit KIT-Zahlen > 12 können mit den gegenwärtigen Systemen nicht garantiert werden. Beispielsweise erfordert das Verpacken von trockenem Tierfutter mit niedrigem Fettgehalt(<10 %) eine Behandlung der Rückseite in der Masse, bei höheren Fettgehalten wird eine Barriere

- 5 durch Massebehandlung in Kombination mit einer Oberflächenbeschichtung durchgeführt.

Papier-, Papp- und Kartonverpackungen werden ordnungsgemäß über den Altpapierkreislauf entsorgt. Die als Fettbarriere eingesetzten Halogenpolymere gelangen somit

- 10 über die Papieraufbereitung entweder in die Papierneuware oder in das Prozessabwasser.

Stärkeether sind als Hilfsstoffe und Einsatzstoffe in der Papierindustrie bekannt. Dabei genutzte Eigenschaften sind in der einschlägigen Literatur ausführlich beschrieben. Sie

- 15 werden eingesetzt in der Oberflächenbeschichtung bzw. dem Strich sowie in pigmentierten Papierbeschichtungen. Auch für den Lebensmittelkontakt zugelassene Papiere, Kartons und Pappen dürfen nach dem BGVV Stärkeether (z.B. Hydroxyethyl- und Hydroxypropylether) enthalten. Stärkeether werden wegen ihrer guten Filmbildungseigenschaft und ihrem Wasserbindevermögen außerdem als Bestandteil von Klebstoffen
20 verwendet. Literatur hierzu findet sich beispielsweise in Ullmanns Enzyklopädie der technischen Chemie; W. Baumann/B. Herberg: Papierchemikalien - Fakten zum Umweltschutz (Springer-Verlag); O.B: Würzburg:

Modified Starches: Properties and Uses (CRC Press).

- 25 WO 02/02412 beschreibt mehrschichtige Verpackungen für fettende Güter basierend auf nativer, modifizierter Stärke.

Weiterhin ist bekannt, dass Stärkeether-Derivate zu Folien bzw. Filmen verarbeitet werden können, vornehmlich in Gießtechnik aus einer wässrigen Lösung.

Wenn die Herstellung der Stärkeether nach dem Slurry-Verfahren erfolgt, wird die wässrige Stärkesuspension im Alkalischen bei Temperaturen bis zu 50°C derivatisiert.

Der Derivatisierungsgrad liegt dabei meist um 0,2. Charakteristisch für diese Verfahren

- 35 ist die bevorzugte Derivatisierung am C2-Atom. Ein anderes, vornehmlich aus wissenschaftlichen Untersuchungen bekanntes Verfahren (Autoklav-Verfahren) geht von alkalisch aktivierter Stärke aus und kommt bei geringeren Trockensubstanz- Konzentrationen zu homogeneren Derivatisierungen, wobei der Derivatisierungsgrad allerdings ähnlich eingestellt wird. Ein Vorgehen nach dieser Strategie ist in der Patentanmeldung
40 DE 42 23 471 A1 beschrieben, wobei die so erhaltenen Stärkeether zur Folienherstellung eingesetzt werden sollen, und zwar insbesondere für die Anwendung als Overhead-, Kopier- und Druckerfolien oder für die Oberflächenveredlung von Spezialpapie-

ren sowie als Verpackungsmaterial. Darüber hinaus wird in dieser Druckschrift erwähnt, dass die genannten Etherderivat-Folien auch im Verbund mit anderen Materialien verwendet werden können.

- 5 Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist die Bereitstellung von lebensmittelrechtlich zulässigen, fettdichten Verpackungsmaterialien mit sehr hoher KIT-Zahl.

Überraschenderweise hat sich herausgestellt, dass Substrate, die selbst keine ausreichende Fettbeständigkeit aufweisen, wie Papier, Karton, Pappe oder andere aus oder

- 10 mit Cellulose hergestellte Materialien, dann fettdicht sind, wenn sie mit alkylenoxidderivatisierter Stärke mit einem Amylosegehalt von größer 70% beschichtet sind.

Die vorliegende Erfindung stellt daher mehrschichtige Verpackungen für fettende Güter oder Teile solcher Verpackungen bereit, die eine Trägerschicht aus einem polymeren

- 15 Material als Hauptkomponente sowie mindestens eine auf die Trägerschicht aufgebrachte, nicht die Außenseite der Verpackung bildende Schicht aufweisen, wobei die auf die Trägerschicht aufgebrachte Schicht eine alkylenoxidderivierte Stärke mit einem Amylosegehalt von größer 70% als Hauptkomponente enthält. Das hierfür verwendete Alkylenoxid kann in gut geeigneter Weise ein C₂-C₆-Alkylenoxid sein. C₂-C₄-Alkylenoxide sind bevorzugt.

Die Beschichtung eines Trägermaterials mit der Funktionsschicht "Hochamylose(HA)-Stärkederivat" realisiert ein fettdichtes Verbundsystem. Die HA-Stärkekomponente ist dabei verantwortlich für die Fettdichtigkeit und weist zudem die Eigenschaft der biologischen Abbaubarkeit auf. Außerdem lässt sich eine solche Stärke gut in Beschich-

- 25 tungsmassen für den angegebenen Zweck einarbeiten, da sie - im Gegensatz zu nativer Stärke - nicht zum Re-Aggregieren (Retrogradation) neigt.

Die Verpackungen der vorliegenden Erfindung sind nicht auf spezifische Ausgestaltungen beschränkt. Ein beispielhafter, bevorzugter Anwendungsbereich sind Verpackungen von Lebens- und Tierfuttermitteln mit geringen Wassergehalten und gleichzeitig

30 hohen Fettgehalten, insbesondere Faltschachteln. Beispiele hierfür sind Verpackungen für Kekse, Schokoladen, sonstige Süßwaren, trockenes Tierfutter, bei denen eine besonders gute Barriere gegen den Durchtritt von Wasserdampf nicht erforderlich ist.

- 35 Aber auch Verpackungen für fetthaltige Nicht-Lebensmittel (z.B. Kosmetika, ölhaltige Farbpigmente oder dergleichen) können erfindungsgemäß gestaltet werden.

Weitere Anwendungsmöglichkeiten liegen in der Beschichtung von anderen Polymeren als Cellulose mit dem erfindungsgemäß vorgeschlagenen Material (z.B. andere Verpa-

- 40 ckungskunststoffe) für ähnliche Verpackungsaufgaben. Auch die Beschichtung von Papier im Sinne eines Einschlagpapieres ist eine mögliche Anwendung.

Mit den Verpackungsmaterialien der vorliegenden Erfindung lassen sich hohe Fettdichtheiten erzielen, die im Bereich ab einer KIT-Zahl von 10, vorzugsweise von mindestens 17, in der Regel aber wesentlich höher liegen. So können Dichtigkeiten einer KIT-Zahl von über 21 erreicht werden, die mit den bisherigen, nicht biokompatiblen bzw.

5 abbaubaren Systemen nicht garantiert werden können.

Weitere Vorteile der erfindungsgemäßen Verpackungen sind, dass ihre Herstellung mit üblichen Verfahren der Papier- bzw. Kartonherstellung kompatibel ist und dass sie biologisch abbaubar sind, wobei sie hinsichtlich der ökonomischen und/oder ökologischen

10 Bewertungen im Vergleich zu üblichen Systemen als besonders vorteilhaft einzustufen sind, insbesondere wenn die Faktoren Preis der Beschichtung einschließlich Verfahrenskosten und die Verträglichkeit mit dem Papierrecyclingprozess berücksichtigt werden sollen.

15 Aufgrund ihrer Bioabbaubarkeit gewährleisten die erfindungsgemäß beschichteten Verpackungen eine gute Verträglichkeit mit den Aufbereitungs- und Abwasserreinigungsmöglichkeiten von Altpapierentsorgungsanlagen. Hier stellt das Abbauverhalten im Papierkreislauf im Sinne der Vermeidung eines weiteren Störstoffeintrags einen entscheidenden Vorteil dar. Geeignete Materialien für die Trägerschicht sind insbesondere Papier, Pappe oder Karton, ggf. in Mischung mit anderen geeigneten oder in der Verpackungstechnologie von Lebensmitteln üblichen oder zulässigen Stoffen wie Bindemitteln oder Farbstoffen. Aber auch andere, bevorzugt auf natürlichen Polymeren wie Cellulose oder dergleichen basierende Materialien oder Kunststoffe können eingesetzt werden.

20 25
30
35 Das HA-Stärkederivat sollte auf der Trägerschicht vorzugsweise einen geschlossenen Film bilden. Sofern dies der Fall ist, können bereits sehr dünne Schichten ab etwa 6 g/m² Flächengewicht fettdicht sein, sofern das Trägermaterial eine relativ hohe Glätte aufweist.

40 Die Beschichtung kann als Oberflächenschicht der Innenseite der Verpackung und/oder als Zwischenschicht, ggf. auch mit der Funktion einer verklebenden Schicht zwischen Papier oder Kartonagelagen oder dergleichen vorgesehen sein. Auch mehrere direkt aufeinander aufgebrachte Beschichtungen können vorteilhaft sein. Ebenso kann vor der Beschichtung mit dem HA-Stärkederivat ein sogenannter Vorstrich (z.B.

mit üblichen Papierbeschichtungsmitteln wie Kaolin oder Stärke) zur Anwendung kommen, der den Zweck einer Vorglättung der Oberfläche hat. Flächengewichte zum Erzielen einer fehlstellenfreien Schicht können so ggf. reduziert werden.

- 5 Die das HA-Stärkederivat enthaltende Schicht kann ggf. durch Aufbringen einer selbsttragenden Schicht aus diesem Material auf die Trägerschicht gelangen. Vorzugsweise wird jedoch eine Lösung oder Suspension des HA-Stärkederivats mit einer geeigneten Menge an Trockensubstanz erzeugt und auf dem Trägermaterial aufgetragen, vorzugsweise aus wässriger Lösung oder Suspension. Eine gut geeignete Menge an Trockensubstanz (TS) des HA-Stärkederivates liegt im Bereich von etwa 5 bis etwa 10 50 Gew.-%, bevorzugt im Bereich von etwa 10 bis etwa 40 Gew.-%, wobei die tatsächlich zu wählende Menge von vorn vorgesehenen Auftragsverfahren abhängt. So kann in manchen Fällen eine Menge von bis hinunter zu 4 Gew.-% ausreichend sein.
- 10
- 15 Das Auftragen kann beispielsweise mit einem Rakel, Sprühen oder per Walzenauftrag erfolgen, ebenso durch "Druckgießen" einer konzentrierteren Lösung sowie durch das flächige Aufbringen einer thermoplastifizierten Schmelze ("Extrusion"). In allen Fällen sollte der Wassergehalt des HA-Stärkederivates nach dem Auftragen auf dem Trägermaterial vorzugsweise auf < 25 Gew.-% reduziert werden (z.B. durch Trocknen mit 20 IR oder konvektiv).

Neben dem HA-Stärkederivat kann die auf der Trägerschicht aufzubringende Schicht auch weitere Additive enthalten. Zum einen bietet sich die Zugabe von Pigmenten (wie generell in der Papierindustrie üblich) an, andererseits die Zugabe von Glycerin, Harnstoff, Borax, Glyoxal oder anderen Zusatzstoffen mit ähnlichen Eigenschaften und Effekten, um gewünschte Werte bezüglich der Elastizität und der Wasser- und Langzeitstabilität zu erzielen. Auch die KIT-Zahl lässt sich in manchen Fällen durch Zusatz solcher Stoffe positiv beeinflussen, z.B. durch Zusatz von Glycerin oder Vernetzer (z.B. Glyoxal). Der Anteil an Hochamylose-Stärkederivat sollte vorzugsweise aber immer so hoch sein, dass die Ausbildung eines fehlstellenfreien Films gewährleistet ist.

- 25
- 30
- 35 Als Ausgangsmaterial wird vorzugsweise Kartoffelstärke mit einem Amylose Anteil von größer 70 % verwendet. Eine Kartoffelstärke mit einem Amyloseanteil von über 70 % kann beispielsweise aus genetisch modifizierten Kartoffelpflanzen isoliert werden, in denen die enzymatische Aktivität der Stärkeverzweigungsenzyme SBE I und II gegenüber der nicht genetisch modifizierten Ausgangspflanze reduziert ist. Ein Verfahren zur Herstellung derartiger Pflanzen ist beispielhaft in Beispiel 1 beschrieben. Weitere Beschreibungen zur Herstellungen von gentechnisch modifizierten Kartoffelpflanzen mit einem Amyloseanteil von größer 70 % sind in den Patentanmeldungen WO 92/11375, 40 WO 97/20040, WO 92/14827, WO 95/26407 und WO 96/34968 und den Patenten US 5,856,467 US 6,169,226, US 6,469,231, US 6,215,042, US 6,570,066 und US 6,103,893 beschrieben.

Kartoffelpflanzen mit einer reduzierten enzymatischen Aktivität der Stärkeverzweigungsenzyme SBE I und SBE II können alternativ auch durch Selektion von geeigneten mutagenisierten Kartoffelpflanzen gewonnen werden.

5

Als Ausgangsmaterialien können auch Stärken mit einem Amyloseanteil von größer 70 % aus anderen Kulturpflanzen wie beispielsweise aus Mais, Weizen, Erbsen oder Tapioca eingesetzt werden. Pflanzen mit einem Amylose Gehalt von größer 70 % können durch genetische Modifikation unter Verwendung molekularbiologischer Methoden und/oder durch Züchtung und Selektion hergestellt werden.

10

Unter HA-Stärke wird eine Stärke mit einem Amylosegehalt von mindestens 70 % verstanden. Vorzugsweise liegt der Amylosegehalt bei mindestens 80 %, besonders bevorzugt bei mindestens 90 %.

15

Die chemische Modifizierung der Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von größer 70 % erfolgt beispielsweise mit einem C₂- oder C₃-Akylenoxid. Propylenoxid ist bevorzugt.

20

Da die HA-Stärke in geeigneter Weise in Gegenwart von Base modifiziert wird, die für die Beschichtung vorgesehene Masse jedoch günstigerweise in etwa neutral reagieren sollte, so dass im Normalfall eine Neutralisierung mit Säure erfolgen muss, ist die modifizierte HA-Stärke in der Regel stark mit Salzen behaftet. Es ist von Vorteil, wenn dieser Salzgehalt nicht zu hoch ist. So empfiehlt es sich, dass die Beschichtungsmasse in der für den Auftrag vorgesehenen Konzentration eine Leitfähigkeit von nicht mehr als 4.000 - 5.000 pS/cm, vorzugsweise von < 2.000 pS/cm besitzt.

25

Die Zugabe von Säuren und Laugen sollte unter dem Gesichtspunkt erfolgen, dass das entstehende Salz lebensmittelrechtlich unbedenklich ist. Geeignete Säuren sind Phosphorsäuren, eine geeignete Base ist Natronlauge. Die Entsalzung kann beispielsweise durch Dialyse erfolgen.

30

Beschichtungen mit höher derivatisierter HA-Stärke zeigen günstigere KIT-Zahlen als solche mit geringeren Derivatisierungsgraden. Es ist aber nicht erforderlich, hohe Substitutionsgrade zu erreichen, denn bereits geringe Grade können zu positiven Effekten führen. Diese hängen aber auch von der Herkunft der eingesetzten HA-Stärke ab. Während ganz allgemein ein Derivatisierungsgrad von 0,05 bis 1,5 geeignet sein kann, sind Bereiche zwischen 0,1 bis 1,0, ganz besonders zwischen 0,1 und 0,3 bevorzugt.

40

Die Herstellung einer als Beschichtungsmasse oder Gießlösung für die vorliegende Erfindung geeigneten HA-Stärkeetherlösung kann beispielsweise wie folgt erfolgen: Die Stärke mit einem Amylosegehalt von größer 70 % (z.B. Weizen-, Mais-, Tapioka,

- Kartoffel- oder HA-Erbsenstärke) wird in annähernd dem Doppelten ihres Gewichts an Wasser einige Stunden gerührt und anschließend grob vom Wasser befreit, z.B. durch Abnutschen. Sie nimmt dabei etwa ihr eigenes Gewicht an Wasser auf, so dass sie ungefähr 40 bis 60% Trockenmasse besitzt. Anschließend wird sie in etwa dem 1,5-fachen ihres Feuchtgewichts resuspendiert und durch Zugabe der gleichen Menge etwa 10%iger Base oder Lauge desintegriert. Sofort darauf werden innerhalb weniger Minuten bis ca. 1 Stunde etwa 25 - 75 Gew.-% Alkylenoxid, vorzugsweise Propylenoxid, bezogen auf das Ausgangsgewicht der trockenen HA-Stärke, zugeführt, wobei milde Temperaturen eingehalten werden sollten. Raumtemperatur ist gut geeignet.
- 10 Man lässt die Mischung mehrere Stunden röhren und anschließend etwa 20 Stunden ruhen; anschließend wird sie mit Säure neutralisiert. Soll eine Entsalzung erfolgen, geschieht dies z.B. durch Dialyse gegen Wasser. Die entsalzte Lösung wird ggf. schonend aufkonzentriert. Der Derivatisierungsgrad der HA-Stärke liegt bei Anwendung von etwa 50 Gew.-% Propylenoxid bei etwa 0,2, in anderen Fällen entsprechend darüber oder darunter.

15 Eine Entsalzung oder Abtrennung störender Inhomogenitäten kann auch beispielsweise mittels Ultrafiltration erfolgen. Sollte das Produkt zu konzentriert sein, kann eine Verdünnung mit entionisiertem Wasser vorgenommen werden.

20 Nach Zusatz der möglicherweise gewünschten Additive (z.B. Konservierungsstoffe, Füllstoffe, Antistatika, Mittel zur Verbesserung der Elastizität, Vernetzungsmittel) kann bei Bedarf mittels Filter oder Zentrifuge eine mechanische Separation durchgeführt und dabei gleichzeitig eine Entgasung der zu verarbeitenden Lösung erreicht werden.

25 Eine für die Zwecke der Erfindung besonders geeignete Beschichtungslösung besitzt die folgenden rheologischen Eigenschaften:

30 Eine dynamische Viskosität von 0,1 Pas bis 40 Pas bei einer Temperatur von 25°C und einer Schergeschwindigkeit von 30,7 s⁻¹. Viskoelastische Eigenschaften der Polymerlösung, wobei das Verhältnis zwischen viskosem und elastischem Anteil Tan K Werte zwischen 1 und 10 (max. 50) bei einer Temperatur von 25°C und einer Schergeschwindigkeit von 30,7 s⁻¹ annimmt. Mit dem beispielhaft genannten Verfahren lassen sich solche Werte ohne weiteres erhalten.

35 Das Verfahren bietet ferner den Vorteil, dass die HA-Stärke besonders schonend und insbesondere durchgängig bei relativ niedrigen Temperaturen (< 60°C) oder vollständig bei Raumtemperatur umgesetzt und verarbeitet wird, was positive Effekte für die Beschichtung des Trägermaterials bewirkt. Durch die Kaltwasserlöslichkeit nach der Neutralisation, Separation, Salzabtrennung und dem Aufkonzentrieren kann die Stärke mit einem Amylose Gehalt von 70 % derart schonend verarbeitet werden, dass keine oder nur unbedeutende Abbaureaktionen einsetzen.

Die wässrige Gießlösung kann vorzugsweise bei Raumtemperatur oder leicht erhöhten Temperaturen mit einem geeigneten Auftragssystem (z.B. Rakel) auf die zu beschichtende Materialbahn (Papier) aufgebracht werden.

5

Besonders günstig hat sich die Verwendung von nach dem Autoklav-Verfahren hergestellten Hydroxypropyletherstärken, insbesondere aus Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von größer 70 % erwiesen, die als Lösungen mit Trockensubstanz-Gehalten von 12 bis 20 Gew.-% und vorzugsweise mit Derivatisierungs-(DS-)Graden von 0,1 bis

10

1,0, stärker bevorzugt bis 0,4, eingesetzt werden. Diese zeigen im Vergleich mit Handelsmustern (mit Fluorcarbonsäuren beschichtet) deutlich bessere Fettdichtigkeiten, insbesondere auch in Knickstellenbereichen, die bei Faltschachtelanwendungen besonders kritisch sind. Im Vergleich zu den zuvor genannten erfindungsgemäßen Beschichtungen mit handelsüblichen Stärkederivaten können die für die Beschichtung mit

15

diesen Stärken eingesetzten Flächengewichte reduziert werden.

Beispiel 1

Herstellung von transgenen Kartoffelpflanzen mit hohem Amylosegehalt

20 Kartoffelpflanzen mit einem Amylosegehalt von größer 70 % können hergestellt werden unter Verwendung der Antisense- oder der RNAi-Technologie mit dem Ziel die enzymatische Aktivität der Stärkeverzweigungsenzyme SBE I und SBE II zu reduzieren bzw. zu eliminieren.

25 Beispielsweise wurde die HA-Stärke produzierende transgene Kartoffellinie Solanum tuberosum AM99-2003 hergestellt in der die Aktivität der Stärkeverzweigungsenzyme inhibiert ist. Die genetische Transformation der Ausgangssorte Dinamo wurde durchgeführt mit einem Genkonstrukt, welches Genfragmente unter Kontrolle eines GBSS-

30 Promoters von SBE I und SBE II in antisense-Orientierung enthält. PBluescript enthaltend ein 1620 Basenpaare langes Fragment des 3' Endes des SBE I Genes zwischen EcoRV und Spel wird mit Spel und Xbal geschnitten und ligiert mit einem 1243 Basenpaare SstI -Xbal Fragment des 3' Endes von SBE II. Der SBE I und der SBE 2 Komplex wird mit Hilfe von EcoRV und Xbal herausgeschnitten und in den mit Smal und Xbal geöffneten Binärvektor pHo3.1 ligiert. Der entstandene Vektor wird mit pHabe12A

35 bezeichnet, siehe Abbildung 1 und Nukleinsäuresequenz SEQ-ID No. 1.

PHo3.1 basiert auf pGPTVKan (Becker, D. et al., Plant Molecular Biology 20 (1992), 1195-1197) und enthält zusätzlich den 987 Basenpaare umfassenden GBSS-Promotor (siehe EP 0 563 189) der in die HindIII Stelle von pGPTVKan kloniert und dessen uidA Gen mit Hilfe von Smal und SstI entfernt wurde.

40

Die Elternlinie Dinamo wird mit dem Konstrukt pHABe12A mit der in US 6,169,226 beschriebenen Methode transformiert und die transgenen Linien auf Kanamycin-haltigen

Medien selektioniert. Die Analyse des Amylosegehaltes der transgenen Pflanzen erfolgte nach der bei (Morrison, W.R. and Laignelet, B., J. Cereal. Sci. 1 (1983), 9-20) beschriebenen Methode.

- 5 Transgene Kartoffelpflanzen mit einem Amylosegehalt von mindestens 70 % wurden selektioniert und angebaut. Die hochamylosehaltige Stärke wurde nach herkömmlichen Methoden isoliert.

Beispiel 2

- 10 Hydroxypropylierung von hochamylosehaltiger Kartoffelstärke

Hochamylosehaltige Kartoffelstärke gewonnen aus genetisch modifizierten Kartoffelpflanzen - siehe Beispiel 1 - wurde im Labormaßstab hydroxypropyliert. Die Modifizierung der Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von 70 % erfolgte gemäß eines Autoklav- bzw. Homogenverfahrens.

15 Nach der Hydroxypropylierungsreaktion wurde die Lösung für die spätere Beschichtung von Karton durch Entsalzung und Aufkonzentrierung aufbereitet. Das Endprodukt sollte einen Derivatisierungsgrad von ca. 0,2, einen Trockengehalt (w/w) von ca. 18% sowie eine Leitfähigkeit von ca. 600 μ S/cm aufweisen.

20 Im Rahmen der Versuche zur Kartonbeschichtung wurden mit der hydroxypropylierten HA-Stärke mittels Handrakelauftrag verschiedene Auftragsgewichte erzeugt.

- 25 Zur Beschichtung des Kartons (Firma Cupforma) wurde die HA-Stärke auf 40°C erwärmt. Die HA-Stärkelösung wurde (einmal bzw. zweimal) auf die gestrichene sowie ungestrichene Seite des Kartons aufgetragen.

Beispiel 3

- 30 Charakterisierung des Endproduktes

Ausgehend von 713 g HA-Stärke aus Kartoffelpflanzen mit einem Amylosegehalt von 70 % - hergestellt nach der in Beispiel 1 beschriebenen Methode - wurden 1770 g Hydroxypropyl-HA-Stärke mit einem Trockengewicht von 27 (w/w) % und einer Leitfähigkeit von 880 μ S/cm hergestellt. Die Leitfähigkeit konnte durch Diafiltration nicht weiter gesenkt werden.

Beispiel 4**Prüfung der Fettdichtigkeit anhand des 3M-KIT-Tests**

- 5 Für die Überprüfung auf die Resistenz gegenüber nicht polaren Substanzen, wird die Beschichtung auf die Dichtigkeit gegenüber Gemischen mit 2 l Prüflösungen unterschiedlicher Konzentrationen an Rizinusöl, Toluol und n-Heptan getestet. Die KIT-Lösung mit der höchsten Zahl, die 15 Sekunden auf der Probe stand ohne einen Durchschlag bzw. eine Verfärbung zu bewirken, ist die kennzeichnende KIT-Zahl.

10

Es wurden Kartons der Firma Cupforma verwendet.

Die Tabelle fasst die Ergebnisse zusammen.

Beschichtung in µm	Auftragsgewicht g/m ²	KIT-Test
12	52,7	>21
24	12,1	>21
24 x 2	44,6	>21

15

In allen drei Fällen erwies sich die Beschichtung mit einer KIT-Zahl > 21 als fettdicht gemäß KIT-Test nach 3M.

Beispiel 5

20

- 713 g Kartoffelstärke mit einem Amylosegehalt von 70 % werden in 1,3 l destilliertem Wasser 4 Stunden lang gerührt und dann abgenutscht. Die feuchte Stärke wird mit 1,824 l Wasser aufgerührt und mit 1.811 g 10%iger Natronlauge, gewonnen durch Mischen von 376 g 50%iger NaOH mit 1.505 g Wasser versetzt. Die Derivatisierung erfolgt mit 323 g Proylenoxid bei 23°C, das innerhalb von 20 min unter Röhren zugesetzt wird. Man lässt die Mischung noch weitere 4 h röhren und 20 h ruhen. Neutralisiert wird mit 40%iger Phosphorsäure (ca. 700 g). Danach wird die Lösung in Dialyseschläuche gefüllt und ca. 4 Tage bei täglichem Wasserwechsel dialysiert. Das Produkt wird mit Hilfe eines Vacuum-Rotationsverdampfers auf über 20% Trockenmasse aufkonzentriert.

Der erhaltene HA-Stärkeether besitzt einen Derivatisierungsgrad von etwa 0,2. Die Leitfähigkeit der Beschichtungsmasse liegt bei etwa 1100 pS/cm.

- 35 Analog zu diesem Beispiel werden die nachstehenden Beschichtungsmassen hergestellt und mit einer 20 µm Rakel auf einseitig gestrichenen Chromo Duplexkarton (GD2), 310 g/m², Dicke ca. 420 µm aufgetragen. Nach der Trocknung des ersten Auf-

trags (fingertrocken, ca. 2 h Dauer) wird eine zweite Schicht aufgetragen und bei Raumtemperatur und etwa 50% Raumfeuchte über etwa 1 Woche, ggf. auch länger, getrocknet.

- 5 An drei Kartonbögen der beschichteten Muster erfolgt die Bestimmung der Auftragsmasse durch Wägung (nach DIN 53 104: Prüfung von Papier und Pappe, Bestimmung des Flächengewichts, Sept. 1971) und der Dicke mit einem Dickenmessgerät (Taster: plan/ballig, 30 SKT, MB = 1 µm). Außerdem wird die KIT- Zahl für unpolare Substanzen nach dem 3M KIT-Test bestimmt. Dabei dienen Lösemittelgemische aus Rizinusöl, Toluol und Heptan als Testflüssigkeiten. Die KIT-Lösung mit der höchsten Zahl, die 15 sec. auf der Probe steht, ohne einen Durchschlag oder eine Verfärbung zu bewirken, ist die kennzeichnende KIT-Zahl.
- 10

Verwendung von hydroxypropylierter hochamylosehaltiger Kartoffelstärke zur Erzielung hoher KIT-Zahlen

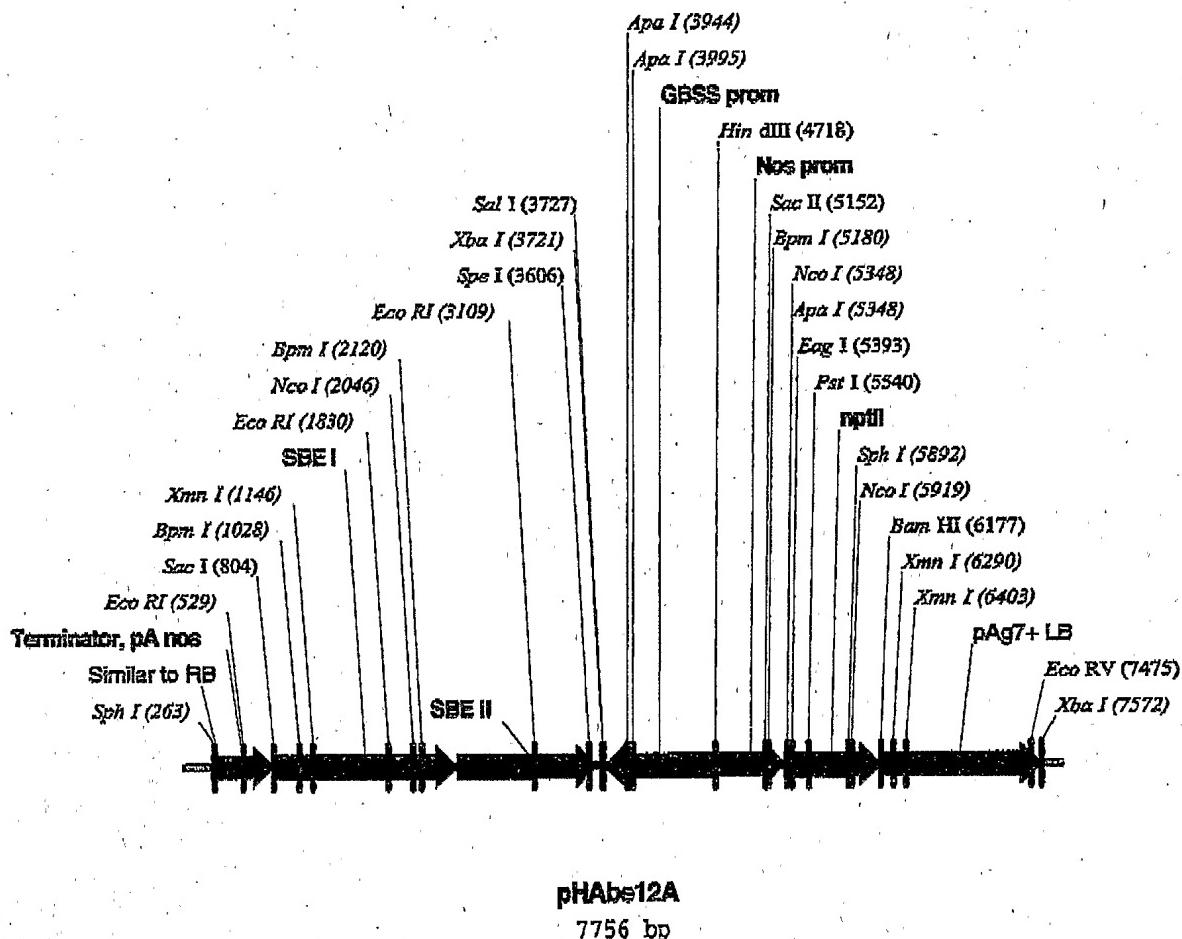
Zusammenfassung

5

Gegenstand der Erfindung ist ein Verfahren zur Herstellung von fettdichtem Verpackungsmaterial mit einer KIT-Zahl von größer 21 durch Verwendung von hydroxypropylierter hochamylosehaltiger Kartoffelstärke.



Figur 1



SEQUENZPROTOKOLL

<110> BASF Plant Science GmbH

5 <120> Verwendung von hydroxypropylierter Kartoffelstärke zur
Erzielung hoher KIT-Zahlen

<130> AE20040256

10 <140> AE20040256

<141> 2004-03-31

<160> 1

15 <170> PatentIn Ver. 2,1

<210> 1

<211> 15294

<212> DNA

20 <213> Künstliche Sequenz

<220>

25 <223> Beschreibung der künstlichen Sequenz: Vektor
pHAbel2A

<400> 1

ggccgggagg gttcgagaag ggggggcacc ccccttcggc gtgcgcggtc acgcgcacag 60

ggcgagcccc tggttaaaaa caaggtttat aaatatttgtt taaaaggcag gttaaaagac 120

aggtagccgg tggccgaaaa acggcgaa acccttgca atgctggatt ttctgcctgt 180

30 ggacagcccc tc当地atgtca ataggtgcgc ccctcatotg tcagcactct gcccctcaag 240

tgtcaaggat cgccggccccc atctgttaat agtgcgcgcc ctcaagtgtc aatacogcag 300

ggcacttato cccaggctt tccacatcat ctgtggggaaa ctgcgcgtaaa atcaggcggtt 360

ttcgccgatt tgcggggctg gccagtcaca ctgcgcggc cgaatcggat cctggccccc 420

atctgtcaac gccgcggccgg tgtagtcggc ccctcaatgt tcaacgttcg ccctcatet 480

35 gtcagtgggg gccaagttt ccgcgggat tccacaacgc cggccggccgc ggtgtctcgc 540

acacgggtt gacggcggtt ctggcggtt tgcaggggca tagacggccg ccagccccagc 600

ggcgaggggca accagocogg tgagcgtcgc aaaggcgctc ggttttgact tgctcgctgg 660

tgatgtactt caccagotcc gcgaagtcgc tttttttgtat ggagcgcatg gggacgtgtt 720

tggcaatcac ggcacacccc cggccgtttt agcggctaaa aaagtcatgg ctctggccccc 780

40 gggcggacca cggccatcat gacccgttca agctcgtoct gtttttttgc gatcttgcac 840

agcaggggca ggatcggtgc atcacccgaa cgcgcgtgc gcegggtcgtc ggtgagccag 900

agtttcagca ggcgcggccag gccccccagg tggccattga tgoggggccag ctgcggacag 960

tgctctatagt ccacgacgccc cgtgattttg tagccctggc cgcacggccag caggttaggcc 1020

gacagggttca tggccggccgc cggcccttt tcccaatcg ctcttcgttc gtctggaaagg 1080

45 cagtacaccc ttatagggtgg gctggccccc ctgggtggct tggtttcatc agccatccgc 1140

ttgcctcat ctgttacgccc ggccgttagcc ggccagccctt gcaagacggat atttccgtt 1200

agcaccgcac ggtggaaata agggacagtg aagaaggaaac acccgctcgc ggggtggccct 1260

acttcaccta tccgtccccc ctgacggcgt tggatatacc aaggaaatgc tacacgaacc 1320

ttttttggaaa atccctgtat tggttcgaaa aaggatggat ataccggaaaa aatcgctata 1380

50 atgaccccgaa agcagggttca tgcagcggaa aagcgccacg cttcccgaaag ggagaaaggc 1440

ggacaggat ccggtaagcg gcagggttgg aacaggagag cgcacggagg agtttccagg 1500

ggggaaacgccc tggtatottt atagtcctgt cgggtttccgc cacctgtac ttgagcgtcg 1560

atttttgtga tgctcgtag gggggggggag cctatggaaa aacggccagca acggccccc 1620

tttacgggttccgtt gctggccccc ttatggatccatc ttctttccgt cgttatcccc 1680

55 tgatttcgtg gataaccgta ttacccgtt tgagtgtactt gataccgcgc gcccgcggccg 1740

aacgaccggag cgcagcgagt cagtggcgt ggaaggcgaa gagcggccaga aggccgcacag 1800

agaggacgag cgcggccgtt aggcttggac gtcaggccag ggcattaaaa agcccgtagc 1860

gggctgtac gggcgcttca cgcgttggaa aggggggggg gatgttgcgtt acatggctt 1920

gctgttagtga gtgggttggat ctccggcacc ggttccgtatc aatcgccacc tttttcgtgt 1980

60 ctccaaatgtt tccgtacaaac gagcatactt ttccggccatc catggacaaat caccggcgagt 2040

ccatgttcaac acgtgtccgtt cggacccggat tggtagaaagg cgttatccgc ggccggcaac 2100

agcggcgaga gcgggagccgtt ttcaacgggtt cggccggcgatc ggccggccatc gtcgtcgccg 2160

gactgtatccat caagcacggc cccaaatgtt aagtagtgc ttttttttgc gcaattggacg 2220

gctgtcccccgg ccgaaaaacc cgcctcgccag aggaaggcggaa gtcggccgtc ggccgtttcc 2280

2

	atctgcgggtg	cgcgggtcg	cgatgcggca	tggatgcgag	cgccatcgcg	gtaggcgagc	2340
	agcgcctgcc	tgaagctgcg	ggcattcccg	atcagaaaatg	agcgcctgcg	gtcgctggct	2400
	ctggcacccg	aatgcgtatg	atttcggcc	agoatggctt	cgccagtgc	gtcgagcagc	2460
	gcccgttgt	tcctgaagtg	ccagtaaaac	gcoggctgtt	gaacccccaa	ccgttccggcc	2520
5	agtttgcgtg	tcgtcagacc	gtctacggcg	acctcggtca	acagttccag	ggcggcacgg	2580
	atcaactgtat	tcggctgcaa	ctttgtcatg	cttgacactt	tatcaactgtat	aaacataata	2640
	tgtccaccaa	cttatcagt	ataaagaatac	cgccgttca	atcgaccat	cgaggctgg	2700
	tccggaggcc	agacgtgaaa	cccaacatac	ccctgtatgt	aatttcgtgg	actgtcgcc	2760
	tcgacgtgt	cgcatcgcc	ctgattatgc	cggtgtctgcc	gggootactg	cgcgatctgg	2820
10	ttcacactgaa	cgaatgttac	gcccactatg	gcattctgtt	ggcgctgtat	gcttgggtgc	2880
	aatttgcgtg	cgaaactgtg	ctggggcgcc	tgtcggtatc	tttccgggg	cgcccaatct	2940
	tgctcgctc	gctggccggc	gccaagatct	ggggaaacct	gtgggtggca	tgcacatata	3000
	aatggacgaa	cggataaacc	ttttcacggc	ctttttaaata	tccgtattt	ctaataaaacg	3060
	ctcttttctc	ttaggtttac	cgccgaaatat	atctgttca	acactgtatag	tttaaaactga	3120
15	aggggggaaa	cgacaatctg	atcatgagcg	gagaattaag	ggagtoacgt	tatgaccccc	3180
	gccgatgacg	cgggacaaggc	cggtttacgt	ttgaaactga	cagaaccgca	acggttgaagg	3240
	agccactcag	ccgatctgaa	ttcccgatct	agtaacatag	atgacaccgc	gcccgtataat	3300
	ttatcctagt	ttgcgcgtca	tattttgttt	tctatcgct	attaaatgtt	taattgcggg	3360
	actctaatac	taaaaaccca	tctcataataat	aacgttcatgc	attacatgtt	aattattata	3420
20	tgcttaacgt	aattcaacag	aaatttatatg	ataatcatcg	daagaccggc	aacaggattc	3480
	aatottaaga	aactttattt	ccaaatgttt	gaacgatcgg	gaaatttcga	gctcggttacc	3540
	atcatgttac	aaaccccccc	gctgttgcgt	gtagatatgg	aaacccggag	gacctaagg	3600
	atctgataga	taaaggcacat	agctgggtt	tacaggttct	ggtggatgtt	gttcacatgc	3660
	atgcaagcaa	taatgcccact	gatggccctca	atgggttttta	tattttccaa	gtttotcaag	3720
25	aatccctactt	tcatgtctgg	gagcaagggt	accataagg	gtgggatagc	aggctgttca	3780
	actatgccaa	ttggggagggt	cttgcgttcc	tttttttccaa	tttgcagggtgg	tggctagaag	3840
	agtataactt	tgacggatcc	cgatgttgc	gaataacttc	tatgtgttat	gttcatcatg	3900
	gaatcaat	gggatccat	ggaaactata	atggatattt	cagcggaggct	acagatgtt	3960
	atgctgtgtt	ctatccat	ttggccaata	atctgttca	caagattttc	ccagacgca	4020
30	ctgttattgc	cgaagatgtt	tctggatgtc	cgggcccttgg	ccggccctgtt	tctgagggag	4080
	gaatttggttt	tgttaccgc	ctggcaatgg	caatcccaga	taatgtggata	gattatttaa	4140
	agaataaaaa	tgtatgaagat	tggtccatga	aggaagtaac	atcgagtttg	acaaatagga	4200
	gatatacaga	gaagtgtata	gcataatgcgg	agagccatga	tcagtttatt	gtcggtgaca	4260
	agaccattgc	atttctctca	atggacaaag	agatgtattt	tggcatgtct	tgcttgacag	4320
35	atgcttctcc	tgttattgtt	cgaggaattt	cgcttcacaa	gatgtatcc	tttttcacaa	4380
	tggccttggg	aggagagggg	taacttcaatt	tcatggtaa	cgagtttggc	catccctgagt	4440
	ggattgactt	cccttagagag	ggcaataatt	ggtgttatga	caaattgtata	cgccatgttga	4500
	accttgcgg	tagcgaacac	ttgagataca	agtttatgtaa	tgcattttgt	agagctatgt	4560
	attcgctcga	tgaaaaggcc	tcattccctcg	catcaggaaa	acagatgtt	agcagcatgg	4620
40	atgatgagaa	gaaggttgc	gtgtttgttgc	gtgttgcaccc	gttattttgtt	ttcaacttcc	4680
	acccaaaaaa	cacatacgaa	gggttataaaag	ttggatgttgc	cttgcagggg	aagtacagag	4740
	ttgcaactgg	cagtgtatgt	tgggatatttgc	gtggccatgg	aaagatgttt	catgtatgtt	4800
	accatttcac	atccatcgaa	ggaaatccatgt	gatgttccaga	aacaattttc	aatggctgtc	4860
	caaattccct	aaaatgttgc	tcttcgtccgc	gaacatgtgt	ggcttattac	agagttgacg	4920
45	aacgcatgt	agaaaactgaa	gttttccat	cagacatttc	tagttagctt	ctaccaacag	4980
	ccaaatatcg	ggagagtgac	gagaaacttca	aagatccgtt	atctacaaat	atcgatgttgc	5040
	ttgacgaaact	catgttcagaa	actgaatgtt	accagacaga	catttctatgt	gagctactac	5100
	caacagccag	tatcgaggag	agtgtacgaga	aactttaaga	ttcatttatct	acaaatatac	5160
	gtacgtgggt	atcattggat	gtgggattcc	cgccatcttta	attatggaaa	ctgggaggtt	5220
50	cttaggtatc	ttctctcaaa	tgatggatgg	tggtttggat	agtttcaattt	tgtatggatcc	5280
	agatttcgtat	gtgtgacatc	aataatgtat	acttcacccac	gattatgttgc	gggatccact	5340
	gggaactaca	aggaataactt	tggactcgca	actgtatgtgg	atgtgtttgtt	gtatctgtatg	5400
	ctggtcacacg	atcttattca	tgggttttgc	cagatgtcaat	taccattgtt	gaagatgttta	5460
	gccccatggcc	gacattttgc	attccctgtt	aagatggggg	tgttggcttt	gactatcgcc	5520
55	tgcataatggc	aattgtgtat	aaatggatttgc	agttgtctaa	gaaa.cgggtt	gaggatggaa	5580
	gagttgggtga	tattgttcat	acactgtacaa	atagaatgt	gtcgaaaaag	tgtgtttcat	5640
	acgtgaaaag	tcatgtatca	gtcttagtgc	gtgataaaaac	tatagatcc	tggctgtatgg	5700
	acaaggatata	gtatgtatcc	atggctctgg	atagaccatc	aacatcatta	atagatgttg	5760
	ggatagcatt	gcacaagatg	attaggcttgc	taactatgttgc	attaggagga	gaaggggtacc	5820
60	taaatttcat	ggggaaatgaa	ttccggccacc	ctgagtggat	tgatttccct	agggctgttac	5880
	aacaccccttc	tgtatggctca	gtatcccg	gaaaccaatt	cagttatgt	aaatgcagac	5940
	ggagatgttgc	cctggggat	gcagaatatttgc	taagataccg	tgggttgca	gaattttgacc	6000
	ggctatgtca	gtatgttgc	gataaaatgttgc	agtttgcgtt	ttcagaacac	cagttatgtat	6060
	cacgaaagga	tgaaggagat	aggatgttgc	tattttgaaaa	agggaaaccta	gtttttgttct	6120

	ttaattttca	ctggacaaaaa	agcttattcag	actatcgcat	aggctgcctg	aaggctggaa	6180
	aataacaagg	tgccttggac	tcaagatgatc	cacttttgg	tggcttcggg	agaattgttac	6240
	ataatggcga	atatttcacc	tttgaaggat	ggtatgtat	tgcgtccctgt	tcaatttatgg	6300
5	tgtatgcacc	tagtagaaaca	gcagtgggtct	atgcactagt	agacaaaagaa	gaagaagaag	6360
	aagaagaagg	agcagtagta	gaagaaggtag	tagtagaaaga	agaatgttacg	aacttgtat	6420
	cgcggtgaaa	gatttgaagg	ctacatagat	ctagagtoga	cctgcataat	atcagaataa	6480
	atggaggag	atgagtaaaa	gttaccactt	gttgagctgt	gtgagtgtat	gagtgagaat	6540
	gaggagggtgc	ctgccttatt	tgtacgggt	ttaagtgaca	cgtgtcaaga	aatagcggg	6600
10	tggctatccc	ttagoagaag	gcaactgttgg	acactgtatt	atagggaaat	gctcatcgac	6660
	agtatttatgg	qccctcttctt	tgttgattca	cggtctggact	tcaacttggg	ccttgcataat	6720
	ggcccggtccg	gttctgtctc	ctagtatcta	aaaaactaaa	ccaactccot	cctaccgcta	6780
	ccacttgaca	ttoctatgtc	tcgtgttaat	taaatttatta	ttatagtaat	taaaaataat	6840
	atctaggta	tggtaactgtt	ccctccctcc	actagaataat	tagtacttc	cccccttagct	6900
	ttgttattcca	aattactgtt	aatatattttt	ctaatttttt	acgacaaaaca	agatctaatt	6960
15	atgaatgoac	aattttaaaag	gttgaataca	ttactttact	tggtttagcc	tatattaaatgt	7020
	tgcatttttag	tattaagat	gagatgtat	gttctattac	aaaattgtata	cactgctaaa	7080
	ggaaggatgg	ttaaaaacaa	cattcaatgt	ttgttacatt	tcttccatt	gtattttttt	7140
	ttttaacgagc	ttccogtata	cattataaca	tgtctccgtt	ccacttggca	ggaaaaaaaa	7200
	atacccaaac	aggaagatad	tgtcaagtat	atccatagat	gaggacttaa	tggataggct	7260
20	tttcgaggat	tcataaaatca	taatatctgg	cgaggaggatc	aattaaataac	tttggttttg	7320
	tatccgtatt	actccgtcaa	cagccaaata	aaaaagtttg	aaaagagaga	aaggattttgg	7380
	tacaagatac	tgttgcattt	gtttaagtaat	gaacaaaacg	gagaacata	attttctatc	7440
	tcgttaaaggc	ttcacgttgc	cgcaaggact	cagggogcaa	gggtgtctaa	ggaagcggaa	7500
	cacgtagaaa	gccagtcgc	agaaacgggt	ctgacccgg	atgaatgtca	gctactggc	7560
25	tatctggaca	agggaaaacg	caagcgcaaa	gagaaagcag	gtagcttgc	gtgggcttac	7620
	atggcgtatag	ctagacttgg	cggtttttag	gacagcaagc	gaaccggaaat	tgccagctgg	7680
	ggccgcctct	ggtaagggtt	ggaagccctg	caaagttaaac	tggatggctt	tcttgcgc	7740
	aaggatctga	tggcgcaggg	gatcaagatc	atgagcggag	aattaaggga	gtcacgttat	7800
	gaccccccggc	gatgacgcgg	gacaaggccgt	tttacgtttt	gaactgacag	aaccgcaacg	7860
30	ttgaaggagc	cactcagccg	cggttttctg	gagtttaatg	agctaaggcac	atacgtcaga	7920
	aaccattatt	gcccgttcaa	aaatcgacca	aggtcaactat	cagctagcaa	atatttttttg	7980
	tcaaaaatgc	tccactgacg	ttccataaaat	ttcccttctgt	atccaatttag	gtctctat	8040
	tcactcttca	tccagatctt	gactctagtc	gagggccat	gggagcttgg	attgaacaag	8100
	atgatttgca	cgcaggatct	ccggccgttt	gggtggagag	gttatttgc	tatgactggg	8160
35	cacaacagac	aatcggttgc	tctgtatggc	ccgttcttgc	gtgtcagcgc	cagggggc	8220
	cggttctttt	tgtcaagacc	gactgttgc	gtggcttgc	tgaatgtcag	gacgaggcag	8280
	cgccggctatc	gtggcttgc	acgacggggc	ttcccttgc	agctgttgc	gacgttgc	8340
	ctgaagcggg	aagggaactgg	ctgttatttgg	gcgaagtgc	ggggcaggat	ttccctgtcat	8400
	ctaaccttgc	ttctgcccag	aaagtatcca	tcatggctga	tgcattgttgc	cggttgcata	8460
40	cgcttgcattc	ggcttacatgc	ccatttcgacc	accaagcgaa	acatcgcatc	gagcgagcac	8520
	gtacttcggat	ggaagcggt	cttgcgtatc	aggatgtatc	ggacgaagag	catcaggggc	8580
	tcggccdcaggc	cgaaactgttc	gccaggctca	aggcgcgcat	gcccgacggc	gaggatctcg	8640
	tcgtgaccctt	tggcgatgtc	tgtttgcgtt	atatcatgtt	ggaaaatggc	cgcttttctg	8700
	gattcatcg	ctgtggccgg	ctgggtgtgg	cggaccgcata	tcaggacata	cggttggcta	8760
45	cccggtatat	tgcgttgcag	cttggcggcg	aatgggttgc	ccgttccctc	gtgttttacg	8820
	gtatcgccgc	tcccgatttcg	cagcgcatacg	ccttctatcg	ccttcttgc	gagtttcttct	8880
	gaggccggacc	caagctatgt	tgcacggatc	ccccgtatgt	ctaaatgtatc	tatattatcatc	8940
	atttatgtat	tacacataat	atgcactca	gttctttatc	tacggcaatgt	taccagctga	9000
	tataatcgat	tattgtatata	ttttctgtat	ttacttgc	tcaatataatt	tatgttttttg	9060
50	cttggactat	aataacctgc	ttttttttttt	atcaatataat	atttaaatctt	tattttttttc	9120
	aagatgggaa	ttaatctact	ggcgttgcgtt	ttacaacgtc	gtgactgggg	aaacccttggc	9180
	gttacccaaac	ttaatcgat	tgcgttgcacat	ccccctttcg	ccagcttggcg	taatagcggaa	9240
	gaggccggca	ccgtatgcctt	ttcccaacatc	ttgcgttgc	tgaatgttgc	ccgttccctt	9300
	cgcttttttc	ccttccttcc	tcggccacgtt	cgccgggttt	ccccgttcaag	ctcttaatcg	9360
55	ggggctccct	ttagggttcc	gatttagtgc	tttacggc	ctcgacccca	aaaaacttgc	9420
	ttttgggtat	gttttcaatgc	gtggccatc	ccccctgtat	acggtttttc	gcccctttgc	9480
	gttggagtcc	acgttcttta	atagttgtat	ttgttccaa	acttggaaatca	cactcaaccc	9540
	tatctcgggc	tatttttttgc	atttataagg	gattttgc	atttcggaaac	caccatcaaaa	9600
	cagatttttc	gtctgttgc	gcaaccaggc	gtggaccgt	tgctgcact	ctcttgcggc	9660
60	caggcgggtga	agggcaatca	gtgttttgc	gtctcaatgc	tgaatggaaa	aaccacccca	9720
	gtacattaaa	aacgttccgca	atgtgttatt	aagttgttca	agcgttcaat	tgttttacacc	9780
	acaatataatc	ctggccacoag	ccagccaaaca	getccccac	oggcagctcg	gcacaaaaatc	9840
	accactcgat	acaggcagcc	catcgttgc	ggacggcgctc	agcggggagag	ccgttgc	9900
	gcggcagact	ttgttgcattgt	taccgtatgt	attcggaaaga	acggcaacta	agctgcccgg	9960

tttaaaacac ggatgatctc gggggggta goatgttgat tgtaacgatg acagagcggt 10020
 gctgcctgtg atcaaatac atcccttag cagagatccg aattatcago ottotttac 10080
 atttctatgt taaccgtgac aggctgtcga tcttgagaac tatggcaca taataggaaa 10140
 tcgtggat aaggcgtga ggaactgag tggcgctatt tctttagaaag tgaacgttga 10200
 5 cgatataaac tcccotatcc attgtcaacc gaatggtaca ggtcgggac ccgaagtcc 10260
 gactgtcgcc ctgtatgtc cccggctgat cgaccctaga tctagatgt gggctgagaa 10320
 agcccagtaa ggaaacaact gttaggttoga gtcgcagat ccccggaac caaaggaat 10380
 aggttaaacc cgctccgtac agggcagcc acgcccagcc gagaacattg gtccctgtag 10440
 10 gcatcgggat tggcggtatca aacactaaag ctactggAAC gaggcagaatg cctccggcc 10500
 ccagttgcca ggccgttaaag gtgagcagag gcacgggagg ttggcaacttg cgggtcagca 10560
 cggttccgaa cgccatggaa accggccccg ccaggccgc tgacgcggc acaggatca 10620
 gcggtgggtt tggtgtcaac accaacagcg ccacgcccgc agtccgcaa atagccccca 10680
 ggaccgcata caatcgatc gggctaccta gcagagcgcc agagatgaac acgaccatca 10740
 gcgctgcac agcgccctacc gtgcgcgca cccggcccg caggcggtag accgaaataa 10800
 15 acaacaagct ccagaatago gaaatattaa gtgcgcgag gatgaagatg cgcatccacc 10860
 agattcccgat tggaaatotgt cggacgatca tcacgagca taaaaccgcg ggcacacgccc 10920
 gcagcagcat accggcgacc cctccggcctc gctgttccggc ctccacgaaa acgcccggaca 10980
 gatgcgcctt gtgagcgtcc ttggggccgt cctcttgcgtt gaagaccgac agcocaatga 11040
 tctccggctc gatgttagggc ccgaatggca cggcatctcg caaccgttca gtcgaacgcct 11100
 20 ccatgggctt ttctctctcg tgctcgtaaa cggccggaa catctcttgcg gctttcttca 11160
 gggccgacaa tggatctcg cgaaatccct cggccgtcgcc cgatccatct 11220
 gagcottaat cacaatttgc aattttatc ctctgtttat cggcagttcg tagagcgcgc 11280
 cgtcgatcc gagcgtact gaggcaagca agtgcgttca ggagtgcggc otgttctctg 11340
 aatgccagt aaagcgctgg ctgtgaacd cccagccgaa actgaccddaa caaggcccta 11400
 25 gcttttgcaa tgcaccaggc catcattgac ccaggcggtg tccaccaggc cgctgcctcg 11460
 caacttctcg cagggttcgc cgacctgctc ggcacacttc ttacacgggg tggaatccga 11520
 tccgacatcg aggccgaaagg ttccagctt gagegggtac ggctccgggt gcgagctgaa 11580
 atagtcgaac atccgtcgcc cctgcggcga cagcttgcgg tacttctccc gatttctcg tcgatcagga 11640
 cgtgtgtgg tgcaccaggc acagcacgac gaagcgggtgc agcagcgaca cctggcaacg 11700
 30 ggacgttttc ttgocacaggc ccaggacgac ggccgtcgcc tccaccaggc ccgattccag 11760
 stgccccaaacg cggtcggacg tgaagccat cgaccaggcc aggtccctgc aaagctcgta 11820
 ctccggcttc gtgtaataco ggcattgtat ggcgtcgcc tggacttccca acacactgtcg 11880
 gaacgtgaag gtgatcggt cgccgatagg ggtgcgttca gctgtactcca 11940
 ccacaccaggc tctgtatcgatc cggccggcgt ctgcacggc tcttcacgtc 12000
 35 ctgttgcac tggaaaatga cttgttttgc daggcctcg cggggattt tttgttgcg 12060
 ctgttgcac agggcagagg gggccgtgtc gtttggcatac gtcgcatacg tgcggggca 12120
 cggcgcaata tcgaaacaagg aaagctgcatt tccctgtatc tgctgtttcg tgggttttgc 12180
 caacgcggcc tgcgttgcct cgtgcacctc ttttgcagg tcctcgccgg cgggttttgc 12240
 ctttttggc tcoatagttc ctgcgtgtc gatggtcatac gacttcgcaca aacactgcgc 12300
 40 ctctgttag agacgacgcg aacgtccac gggggccgat ggcgcgggca gggcaggggg 12360
 agccagttgc acgtgtcgcc gtcgcatttt ggcgttaget tgcgttgcacca 12420
 ggacttggaa gtttgcgggg ggcacgcoat gacgggtgcgg atttgcgtatgg tttcggcatac 12480
 ctccggcgaa aaccccgctt cgatcgttc ttgcctgtat gccttccgggt caaacgtccg 12540
 attcattcac ctcccttgcg ggatttgcgg gactcacaac gggcaatgt gcccttatttc 12600
 45 ctgatttgc cgcctgtgt cttttgtgtc cagataatcc accttatcc caatgaagtc 12660
 ggtccctgtg accgtcttgc cgtcttctc gtacttggta ttccgaatct tggccctgcac 12720
 gaataccaggc gacccttgc ccaaataactt gccgtggcc tgggtcgag agccaaaaaca 12780
 ctgtatcgccc aagaagtctgg tggcttctg ctgtgcggc gcacgttgc gccacatcta 12840
 ggtactaaaaa caatcatcc agttaataat aatattttat ttcttcccaa aatattttat tcaaggcttgc 12900
 50 tccccagtaa tcoaaaaat agtgcacat tgcgttgc tccctgtatcc cccgatatacc 12960
 accggacgca gaaggcaatg tcataccact tgcgttgc tccctgtatcc ccaagatccaa 13020
 taaaggccact taaatggca tctttcacaa agatgttgc tgcgttgc tccctgtatcc 13080
 aaaagacaag ttcccttgcg ggcttttgcg tottttaaaa atcatacagc tgcgcgcgat 13140
 otttaaatgg agtgcgttgc tccctgtatcc cgcacatccac atcggccaga tgcgttgc 13200
 55 gtaagtaatc caattcgct aagcggtgt tcaagctatt cgtataggaa caatccgata 13260
 tgtcgtatgg gtggaaagacg ctgtgcact cgcacatccac atcggccaga ttttcaggac 13320
 tttgttgcatac ttcatactt tccgagccaa ggacgcacatc ggooteactc atgagcagat 13380
 tgctccagcc atcatgcgt taaaagtgcg ggaccttgg aacagggcagc ttccttccca 13440
 gccatagcat ctgtccctt tccctgtatcc catcataggt gtcgcgttca taccggctgt 13500
 60 ccgttccat taaaatataagg tttttaatttt ctccacccag cttatataacc ttagcaggag 13560
 acattccctt cgtatcttt acgcacgcgt attttgcgt tgcgttgc ttccttccca 13620
 atattctcat tttagccatt tatttttcc ttccttccca ctacgttatt taaagatacc 13680
 ccaagaagct aattataaca agaogaactc caattcactg ttccttgcac tctaaaaacct 13740
 taaataccag aaaacagctt tttccaaatgg gttttcaaaag ttggcgatca acatagttac 13800

5 gacggagccg attttgaaac cacaattatg ggtgatgtcg ccaacttact gatttagtgt 13860
 atgatggtgt ttttgagggtc ctccagtggc ttctgtgtct atcagctgtc ctcctgttc 13920
 agctactgac ggggtggtgc gtaaoggaa aagcacccgc ggacatcage gctatotctg 13980
 ctctcaactgc ctgtaaaacat ggcaactgca ttcaacttac accgttetc aaccgggtac 14040
 10 gcaccagaaa atcattgata tggcatgaa tggcggttga tgccgggcaa cagccccgt 14100
 tatggcggtt ggcctcaaca cgattttaacg ttacttaaaa aactcaggcc gcagtcgtta 14160
 acctcgcgcgca tacagcgggg cagtgaegtc atcgtctgcg cggaaatggc cgaacagtgg 14220
 ggotatgtcg gggctaaatc ggcgcagcgc tggctgtttt acgcgtatga cagtctcgg 14280
 aagacgggtt ttcgcacgtt attcgggtgaa cgcactatgg cgacgtggg gcgttctatg 14340
 15 agcctgtgtt caccctttga cgtggtgata tggatgacgg atggotggcc gctgtatgaa 14400
 tcccgcctga agggaaagct gcacgtaatc agcaaggat atacgcagcg aatttaggggg 14460
 cataacctga atctgaggca gcacctggca cggotgggac ggaagtcgt gtctatctca 14520
 aaatcggtgg agotgcatac caaatgcatac gggcattatac tgaacataaa acactatcaa 14580
 taagttggag tcattaccca attatgatac aatttataaag ctataaggat attgttctgg 14640
 20 gtttcaagca tttagtccatg caagttttta tgctttggcc attctataga tatattgata 14700
 agcgcgcgtgc ctatgccttgc cccctgaaa tccttacata cggcgatatac ttctatataa 14760
 aagatataatt atcttatcag tatttgcattt atattcaagg caatctgcct cctcatctc 14820
 ttcatcctct tcgttttgggt agtttttaa atatggcgat tcatagagta attctgtaaa 14880
 ggtcaatttcc tcttttccat acctcggat aatcttacat atcacctcaat atggttcgct 14940
 25 gggtttatcg caccccccggaa cacgagcactg gcacccggca ccactatgcc aagaatggcc 15000
 aaggtaaaaaa ttggccggccc cgcctatgaaatc tccgtgaatg ccccgacggc cgaagtgaag 15060
 ggcaggccgc caccctggcc ggcgcctca ctggccggca cctggctcgat gaatgtcgat 15120
 gcccgcaccc tggggcactgc aatgtttccg ggcgtcgcc tcgggtcgat cgcggatcccc 15180
 gttactgcaccc cgateccccggc aatggcaagg actggccageg ctgcatttt tgggggtgagg 15240
 cogttcgccggc cccggggggcg cagccccctgg ggggatggga ggcccgcggtt agcg 15294